

# Evaluación del cultivo de *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes, Agaricales – Polyporales) empleando sustratos alternativos presentes en el Paraguay

Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes, Agaricales – Polyporales) using alternative substrates present from Paraguay

De Madrignac, Bárbara R.<sup>1,2,3 \*</sup>; Alma M. Flecha<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología. Universidad Nacional de Asunción, Avenida Mariscal Estigarribia Km 11,5. 2160. San Lorenzo, Paraguay.

<sup>2</sup> Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Dr. Bernardino Caballero N° 1240 entre Eusebio Lillo y Tte. Vera, 001409 – Ykua Sati. Barrio Herrera. Asunción, Paraguay.

<sup>3</sup> Instituto de Botánica del Nordeste. Sargento Cabral 2131, (3400) Corrientes, Argentina.

\* Autor corresponsal: dmgbonzi@gmail.com

## RESUMEN

Con el propósito de cultivar cepas de *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* se realizaron ensayos con cinco sustratos experimentales realizando mezclas en proporciones distintas. Como inóculo se utilizaron semillas de porotos y garbanzos, granos de avena y cebada, utilizando los granos de avena como control positivo de crecimiento del micelio. Se prepararon los sustratos de cultivo en bolsas de polipropileno con 1/2Kg y 1 kg de sustrato húmedo de virutas de madera, bagazo de caña procesado, hojarascas y granos de avena en baja proporción para enriquecer el sustrato, utilizando las virutas de *Cedrela fissilis* como control positivo; las bolsas se esterilizaron por dos h a 120°C, 1 atm de presión y luego se inocularon y fueron incubadas en la oscuridad a 18/25°C de temperatura y aproximadamente 70% de humedad ambiente, durante 22-35 días. Una vez cubierto de micelio el sustrato, se pasó a la inducción con 12 h de luz y oscuridad, riego de dos veces por día, temperatura y

► Ref. bibliográfica: De Madrignac, B. R.; Flecha, A. M. 2019. "Evaluación del cultivo de *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes, Agaricales – Polyporales) empleando sustratos alternativos presentes en el Paraguay". *Lilloa* 56 (1): ...-... Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina. D.O.I.: doi.org/10.30550/j.lil/2019.56.1/...

► Recibido: 06/08/18 – Aceptado: 27/05/19

► URL de la revista: <http://lilloa.lillo.org.ar>



► Algunos derechos reservados. Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

humedad constantes. Al cabo de 30 a 35 días ya se obtuvieron basidiomas. Se evaluó la eficiencia biológica (EB%) desde el momento de la inducción hasta la cosecha. El sustrato con mejores resultados después del control (53,20%EB) fue la mezcla de virutas con avena y hojarascas con una EB (45,20%). Se obtuvieron fructificaciones en todos los sustratos con excepción de bagazo de caña. La utilización de desechos orgánicos para el cultivo de hongos puede resultar una interesante alternativa de reciclaje de materia orgánica para generar cultivos a pequeña o gran escala.

**Palabras clave** — Basidiomas, inóculo, sustrato.

## ABSTRACT

In order to cultivate *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* strains, five experimental substrates were tested and mixed in different proportions. Bean and chickpea seeds, oat grains and barley were used as inoculum, using oat grains as positive control of mycelium growth. Culture substrates were prepared in polypropylene bags with 1/2Kg and 1 kg of wet substrate of wood shavings, processed cane bagasse, leaves and oat grains in low proportion to enrich the substrate, using *Cedrela fissilis* shavings as positive control; the bags were sterilized for two hours at 120°C and 1 atm of pressure and then inoculated and incubated in the dark at 18/25°C of temperature and approximately 70% of ambient humidity, during 22-35 days. Once the substrate was covered with mycelium, induction was performed with 12 hrs of light and darkness, irrigation twice a day, constant temperature and humidity. After 30 to 35 days basidiomas were obtained. Biological efficiency (EB%) from induction to harvest was evaluated. The substrate with the best results after the control (53,20% EB) was the mixture of shavings with oats and leaves (45,20% EB). Fruits were obtained in all substrates with the exception of sugarcane bagasse. The use of organic waste for mushroom cultivation can be an interesting alternative for recycling organic matter to generate crops on a small or large scale.

**Keywords** — Basidioma, inoculum, substrate.

## INTRODUCCIÓN

De las 70.000 especies de hongos que se conocen, aproximadamente el 3% son consideradas como buen comestible y son cultivadas a nivel mundial (López Rodríguez, Hernández-Corredor, Suárez-Franco, Borrero, 2008). La producción de hongos comestibles está en constante crecimiento en cantidad de producto y en número de especies cultivadas (Albertó, 2008).

Argentina fue el primer país en Sudamérica donde se inició el cultivo de hongos desde el año 1941, a partir de la fecha, la producción aumentó favorablemente, dando paso al cultivo de más especies y entre esas a las gírgolas. Desde la década del ochenta se inició el cultivo de gírgolas [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm]. El

Shiitake [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] fue la última especie en ser incorporada a la producción en los años noventa (Albertó, 2008; Martínez-Carrera, *et al.*, 2004; Mora y Martínez-Carrera, 2007). En Paraguay, Zanotti-Cavazonni realizó un estudio de toxicología y sustratos eficientes sobre los que crecen hongos comestibles del departamento Central (Zanotti-Cavazonni, 2000). En el departamento San Pedro, en la Reserva Natural Laguna Blanca se registraron hongos silvestres comestibles, medicinales y tóxicos (Campi, De Madrignac, Flecha, Ortellado, 2013).

Las gírgolas (*P. ostreatus*) son conocidas por su plasticidad en el cultivo, pudiendo cultivarse en diferentes tipos de sustratos agrícolas que luego pueden re utilizarse como abonos orgánicos una vez que culmina su ciclo de producción (Alder y Zubiliaga, 2014; Gaitán Hernández, Salmones, Pérez Merlo, Mata, 2006). La especie *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. posee importantes propiedades medicinales. Su cultivo fue mejorado con los años para extraer principalmente polisacáridos y triterpenos, responsables de las actividades antioxidantes, Inmunomoduladoras y anticancerígenas (Bidegain *et al.*, 2014; Figlas y Curvetto, 2002; Gaitán Hernández *et al.*, 2006, Rossi *et al.*, 2014).

Al tratarse de dos especies degradadoras de madera, son utilizados sustratos ricos en lignina y celulosa, siendo los más utilizados los residuos de las industrias madereras y semillas oleaginosas con agregados de aceites vegetales (Bidegain, 2017; Ávila López, 2013; Ciappini, Gatti, López Zamora, 2004).

Estas dos últimas especies de Basidiomicetes mencionadas crecen naturalmente en nuestro ambiente, abundan en los bosques cálidos y húmedos del Paraguay, fueron encontradas en los departamentos de Alto Paraná, Central y San Pedro. El cultivo de ambas especies resulta sencillo y no se necesita mucha infraestructura, por ser saprófitas, se las puede cultivar en sustratos orgánicos.

Estos factores facilitan la posibilidad de cultivo, siendo mínima la inversión para la obtención de estas cepas (Alder y Zubiliaga, 2014).

En este trabajo se realizan pruebas para evaluar diferentes tipos de sustratos para la producción de las cepas *P. ostreatus* y *G. lucidum* a partir de desechos orgánicos comunes y accesibles, para producir alimentos y medicina, en cortos periodos de tiempo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para las pruebas se utilizaron dos cepas adquiridas de la empresa Fungiar, *P. ostreatus* y *G. lucidum*, aparte una cepa silvestre de *Ganoderma lucidum* complex (*sensu* Zhou *et al.*, 2015). Estas cepas fueron introducidas al cepario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción. (Facen Cult. 12), (Facen Cult. 57) y (Facen Cult. 47) respectivamente. El basidioma del cual se aisló la cepa silvestre fue colectado en el departamento Central (ecorregión de litoral y Selva Central según, Mereles *et al.*, 2013) fue fotografiado in situ, se describió macroscópicamente, se enumeró y se incorporó a los herbarios CTES y FACEN.

La cepa silvestre fue utilizada en una sola prueba a fin de comprobar si se podían obtener basidiomas a partir de ella.

## 1. Materiales utilizados.—

**1.1. Inóculo.—** Se emplearán los siguientes granos como sustrato para la producción de inóculo.

- Granos de avena (*Avena sativa* L.), (grupo control).
- Granos de cebada (*Hordeum vulgare* L.).
- Semillas de porotos (*Phaseolus vulgaris* L.).
- Semillas de garbanzos (*Cicer arietinum* L.).

## 1.2. Sustratos de cultivo.—

– Virutas de cedro paraguayo (*Cedrela fissilis* Vell.) (grupo control según, López-Rodríguez *et al.*, 2008).

– Bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.).

– Mezcla de Virutas de cedro paraguayo (*Cedrela fissilis*), Pino (*Pinus* sp.), Yvyra pyta (*Peltophorum dubium*).

– Hojarascas (Hojas y pequeñas ramas en descomposición de lapacho [*Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos.], yvyra pyta [*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.], timbó [*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong], yvyra pepe (*Holocalyx balansae* Micheli.), kupa'y [*Anadenathera colubrina* (Vell.) Brenan] yvyraro (*Pterogyne nitens* Tul.] entre otras especies (Cartes, Fontana y Yanosky, 2016). Para evitar la compactación del sustrato antes de la expansión total del micelio se agregó  $\frac{1}{4}$  (25%) de granos de alpiste (*Phalaris canariensis* L.)

Los sustratos nombrados como grupos control (testigos), son algunos de los más utilizados por (Jaramillo y Albertó 2012; Gaitán-Hernández *et al.*, 2006) para el cultivo de estas especies y se utilizaron como control de crecimiento rápido, con el fin de comparar con los demás sustratos experimentales. Se realizaron 5 réplicas por tratamiento bajo condiciones controladas de temperatura y humedad.

## 1.3 Variables analizadas.—

### 1.3.1. Variables dependientes:

- Tiempo de crecimiento del micelio: días;
- Peso fresco total de los basidiomas (gramos);
- Diámetro de los basidiomas: Diámetro del píleo y estípite de los basidiomas (centímetros)
- Cantidad total de Hongos: Total de basidiomas cosechados por sustrato.
- Rendimiento: peso de basidiomas en fresco (g) / peso de sustrato húmedo (g).
- Eficiencia Biológica (EB): Peso fresco de los basidiomas (g) / peso seco del sustrato (g).
- EB= PFH/PSS\*100 donde: PFH, Peso fresco de los basidiomas
- PSS: Peso seco del sustrato

### 1.3.2. Variable independiente:

El sustrato a utilizar: desechos orgánicos y Virutas.

**2. Fases del cultivo de Hongos.**— Las fases que comprenden son, aislamiento del material, obtención de micelio en placas de Petri, preparación del inóculo (granos y semillas) y sustrato final (residuos orgánicos y virutas), inoculación, incubación y cosecha.

**3. Medios para aislamiento de cepas.**— Para el aislamiento y manutención de la cepa se utilizaron tres medios de cultivos primarios: Medios de pruebas (Merck KGaA).

- Agar Malta (AM); (Alberto, 2008; Kuhar *et al.*, 2018).
- Agar Papa Dextrosa (PDA) (Alberto, 2008; Kuhar *et al.*, 2018).
- Agar Papa Glucosa (Artesanal).

Para el crecimiento del micelio se mantuvo a una temperatura de 25°C (Colavolpe y Albertó, 2014; García Rollan, 1985), en una incubadora, en la oscuridad plena para las tres cepas.

**4. Preparación de inóculos.**— Se prepararon frascos de un litro de capacidad, sellados con tapones de papel madera, llenando  $\frac{3}{4}$  (75%) de su capacidad con granos de avena, cebada y semillas de porotos y garbanzos humedecidos por inmersión durante 12 h luego hervidas en 900 ml de agua. Se esterilizó en autoclave por 2 h a 120°C, luego se enfrió a temperatura ambiente.

Las semillas y los granos esterilizados se inocularon con agar ya colonizado con el micelio de la cepa deseada, cortando el agar de la placa en 4 partes iguales, utilizando  $\frac{1}{4}$  de parte (25%) de agar colonizado por frasco (Colavolpe y Albertó, 2014).

Los frascos ya inoculados se incubaron en la oscuridad a 25°C, agitándolos periódicamente con la intención de que el micelio crecido junto con los granos y las semillas no adquiera dureza (Colavolpe y Albertó, 2014; García Rollan, 1985).

Este procedimiento completo se repitió tres veces.

**5. Preparación de los sustratos de cultivo.**— Los 5 sustratos fueron humedecidos por inmersión durante 12 h y luego se colocaron en bolsas.

Para *Pleurotus ostreatus* (Bolsas de 2,5 L)

Se rellenaron 10 bolsas con 500 g de cinco tipos de sustratos:

- Virutas de cedro paraguayo (100%).
- Virutas de cedro paraguayo (62%) + granos de Avena (38%).
- Virutas de cedro paraguayo (80%) + Bagazo de caña dulce (20%).
- Caña de azúcar (80%) + granos de cebada (20%).
- Virutas de cedro (50%) + Hojarascas (25%) + granos de avena (25%).

Para *Ganoderma lucidum* (bolsas de 5 L).

Se rellenaron 10 bolsas con 1 kg de cinco tipos de sustratos:

- Virutas de cedro paraguayo (100%).
- Virutas de cedro paraguayo (81%) + granos de Avena 19%).
- Virutas de cedro paraguayo (80%) + Bagazo de caña dulce (20%).
- Virutas de cedro paraguayo – pino – Yvyra pyta (60%) + Hojarascas (40%).
- Virutas de cedro paraguayo (50%) + Hojarascas (25%) + granos de avena (25%).

Todas las bolsas se esterilizaron a 120°C y 1 at de presión durante 2 h.

La humedad ambiente de la sala de incubación se mantuvo aproximadamente en un 70 % - 80%, realizando riegos dos a tres veces al día con rociadores manuales llenados con agua de grifo. Este procedimiento completo se repitió tres veces.

En la primera prueba las diez bolsas de 1 kg fueron tratadas con 1% de CaCO<sub>3</sub> en polvo (Utilizado como regulador de pH del medio), no así en las dos repeticiones, esto, para comparar los crecimientos con y sin Carbonato de Calcio.

**6. Inoculación de sustratos de cultivo.**— Los sustratos de cultivo mencionados en el punto cinco, fueron inoculados con los granos y semillas mencionados en el punto cuatro. Se incubaron en una sala oscura a 21°C y 70 % de humedad (Colavolpe y Albertó, 2014).

**7. Inducción al crecimiento de primordios.**— Una vez que el micelio se propagó por todo el sustrato, se pasó a la fase de alternancia luz/oscuridad. En esta se realizó un tratamiento de 12-18 h de luz con 4 fluorescentes de 40W de potencia, simulando el día y la noche con el objetivo de obtener basidiomas. Además, se controló el riego 2-3 veces por día a fin de mantener la humedad ambiente.

No se utilizó un fotómetro para realizar un control de luminosidad. Se utilizó la fase luminosa solo con el objetivo de estimular el crecimiento de los primordios y se calculó la Intensidad Luminosa mediante: el área de la sala en m<sup>2</sup>, la cantidad de tubos fluorescentes, la potencia nominal de las lámparas y el rendimiento luminoso. Intensidad luminosa: (I).

$I = \Phi / W$  (Cociente entre el flujo luminoso y potencia total consumida), (cd: candela) (Jiménez, Aguilar y Rico, 1995).

Para el desarrollo de los basidiomas, se realizaron cortes de aproximadamente 6 cm de longitud en las bolsas de polipropileno.

A fin de mantener la humedad de las bolsas se sometieron a dos riegos por día, utilizando agua de grifo y un rociador manual.

**8. Ensayos de producción.**— Se controló diariamente temperatura y humedad ambiente además de cuantificar el crecimiento del micelio cada cinco días. Se consideró como variables cualitativas a la temperatura y la humedad y, como variable cuantitativa al tiempo de crecimiento del sustrato. También se realizó el cálculo de eficiencia biológica a partir de los basidiomas obtenidos.

**9. Métodos estadísticos.**— Análisis de crecimiento del micelio en cada uno de los sustratos utilizados: Se tomaron medidas estimativas de crecimiento en porcentaje del micelio en días, controlando periódicamente. En cada sustrato, los datos fueron recogidos para obtener la media y pruebas de ANOVA con un nivel de significancia del 95% de cada uno de los muestreos. Para ver si los sustratos eran realmente eficientes y el crecimiento era igual, se realizaron análisis de eficiencia biológica calculada a partir de la razón entre el peso fresco de los basidiomas y el



peso del sustrato seco; también se calculó el coeficiente de correlación existente entre sustratos, esto con el programa Microsoft Excel ® 2016 y el programa Infostat. Los análisis se realizaron suponiendo una distribución normal con la prueba de Shapiro Wilk para menos de 50 muestras o repeticiones, que utiliza un nivel de significancia de 95% (López Rodríguez *et al.*, 2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Crecimiento de las cepas

En los medios de cultivo agarizados, los tiempos de crecimiento fueron distintos en ambas especies, en *Pleurotus ostreatus* el crecimiento radial del micelio se inició a los 3 días; a los 20 días el micelio ya ocupaba toda la placa de Petri. La diferencia en tiempo de crecimiento de las cepas en comparación con otros trabajos puede deberse a la temperatura, cabe resaltar que el cultivo de hongos en climas muy cálidos requiere de más cuidados, ya que en épocas de verano las temperaturas son muy altas (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006; García Rollán, 1985). En *Ganoderma lucidum*, el crecimiento se inició a partir de los 5 días, llegando a ocupar la totalidad de la placa a los 25 o 30 días. Esta diferencia no es significativa, ambos medios utilizados son igual de eficientes para ambas cepas cultivadas teniendo en cuenta la bibliografía (Rodríguez Valencia y Jaramillo López, 2005)

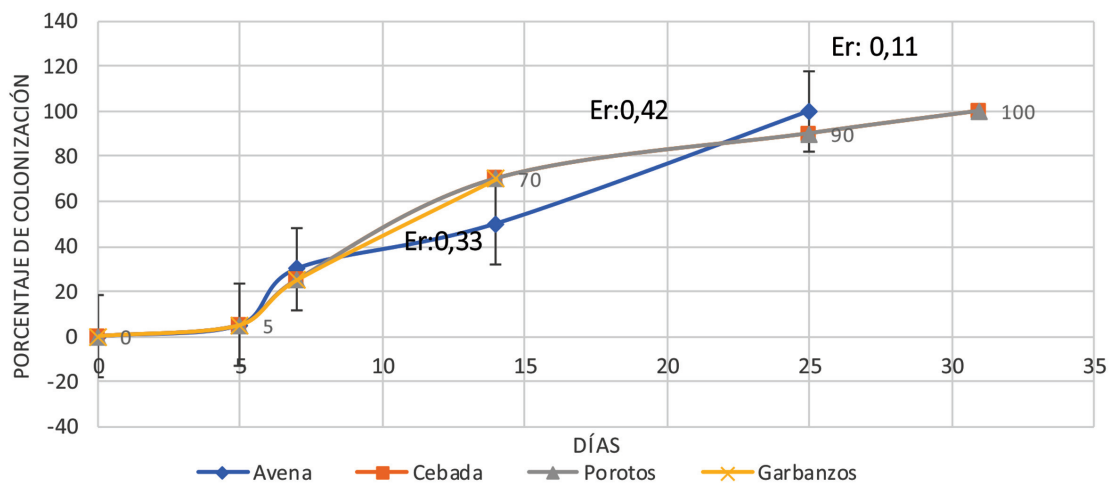
### Inóculo

**Análisis de desarrollo y crecimiento del Inóculo.**— El sustrato que mejor funcionó como inóculo para ambas cepas, después del testigo (avena) fue el poroto negro (con un crecimiento total en 21 días), y por último la cebada (crecimiento total en 25 días). Estos últimos se consideraron como sustratos eficientes en los que se obtiene el crecimiento óptimo del micelio en pocos días (Fig.1 y Fig. 2). Según las pruebas realizadas de ANOVA no se encontraron diferencias significativas en el crecimiento. Sin embargo, en esta experiencia los resultados no fueron satisfactorios para el sustrato preparado con garbanzo, cuyo crecimiento se estancó a los 15 días, donde empezó un proceso de ablandamiento del sustrato que impedía su utilización.

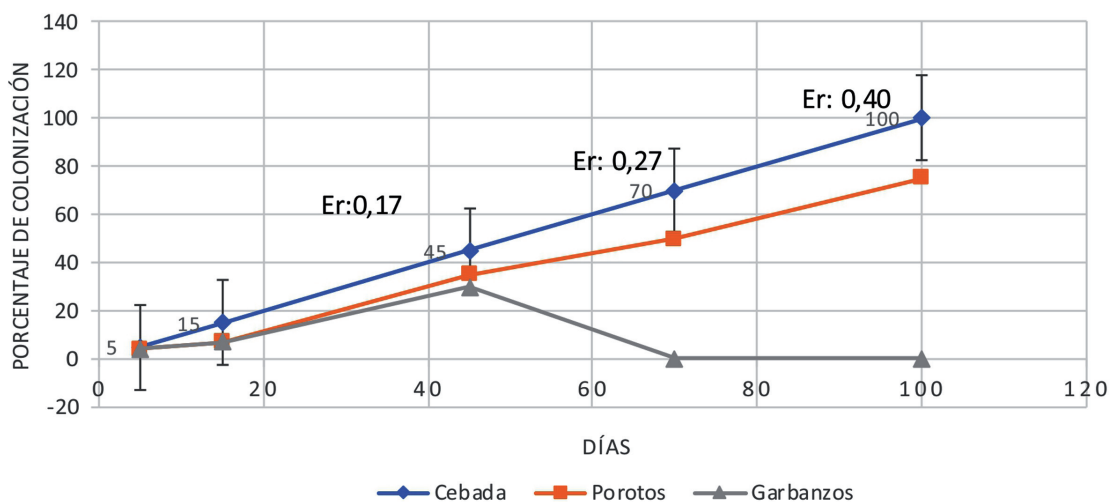
**Sustratos.**— Todos los sustratos utilizados tuvieron eficiencia biológica próximas al 50 % con oleadas (cosecha de basidiomas) obtenidas cada 20 a 30 días como máximo.

Los resultados de los parámetros evaluados se encuentran en las tablas 1, 2 y 3. Si bien en todos los sustratos se obtuvieron basidiomas, se observó una diferencia de crecimiento en días, en donde unos sustratos dieron basidiomas antes que otros, a pesar de las similitudes en eficiencia biológica.

Para ambas especies cultivadas el sustrato más eficiente después del AC (control positivo) fue la mezcla compuesta de virutas (MA), hojarasca (HOJ) y semillas



**Fig. 1.** Crecimiento del micelio en los diferentes granos empleados para la producción del inóculo de *P. ostreatus*. Grupo control: granos de Avena (*A. sativa*). Sustratos de producción local utilizados: Poroto negro (*P. vulgaris*), garbanzos (*C. arietinum*) y granos de cebada (*H. vulgare*).



**Fig. 2.** Crecimiento del micelio en los diferentes granos empleados para la producción del inóculo de *G. lucidum*. Grupo control: granos de Avena (*A. sativa*). Sustratos de producción local utilizados: Poroto negro (*P. vulgaris*), garbanzos (*C. arietinum*) y granos de cebada (*H. vulgare*).

de avena (AV), seguido de las virutas de distintos sustratos con semillas de avena (MA+AV) (Tabla 1 y 2), descartándose los sustratos obtenidos con mezclas de virutas y bagazo de caña por dar resultados poco favorables. Los resultados de las pruebas estadísticas demuestran que no existen diferencias significativas con el tiempo total de cultivo (días), entre los sustratos funcionales dando crecimientos de micelio y oleadas con basidiomas sin una notable diferencia. Con la prueba de t de student se verificó que ninguno de los sustratos: mezcla de virutas, hojarasca y avena ( $p=0.98$ ), mezcla de virutas con avena ( $p=0.93$ ) superó al sustrato control (Tabla 1 y 2). Esto coincide con estudios realizados anteriormente con sustratos diferentes en donde utilizan virutas de maderas de otra especie como grupo testigo (López-Rodríguez *et al.*, 2008).



**Tabla 1.** *P. ostreatus*. Variables analizadas. Mezcla de Aserrines (MA), Hojarascas (HOJ), Avena (AV), Virutas de Cedro Paraguayo (VC). Valores diferentes con letras distintas para cada fila, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los superíndices a:  $p \geq 0,5$ ; b:  $p \leq 0,5$ .

	Sustratos evaluados		
	MA+AV	MA+HOJ+AV	VC
Tiempo total de cultivo (días)	42	49	39
Numero de Basidiomas cosechados	35 $\pm$ 0,76 <sup>a</sup>	30 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	30 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>
Peso en fresco (g)	200 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	226 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	266 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Diámetro promedio de los basidiomas (cm)	6 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>	10 $\pm$ 0,48 <sup>b</sup>	7 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>
Eficiencia Biológica (%)	40 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	45,20 $\pm$ 1,21 <sup>a</sup>	53,20 $\pm$ 1,13 <sup>a</sup>

**Tabla 2.** *Ganoderma lucidum*. Variables analizadas. Mezcla de Aserrines (MA), Hojarascas (HOJ), Avena (AV), Virutas de Cedro Paraguayo (VC). Valores diferentes con letras distintas para cada fila, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los superíndices a:  $p \geq 0,46$ ; b:  $p \leq 0,46$ .

	Sustratos evaluados		
	MA+AV	MA+HOJ+AV	VC
Tiempo total de cultivo (días)	49	41	35
Numero de Basidiomas cosechados	11 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	10 $\pm$ 0,45 <sup>b</sup>	10 $\pm$ 0,45 <sup>b</sup>
Peso en fresco (g)	111 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	118 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	121 $\pm$ 0,51 <sup>a</sup>
Diámetro promedio de los basidiomas (cm)	5 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	5,5 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	6 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
Eficiencia Biológica (%)	22,2 $\pm$ 3,50 <sup>a</sup>	23,6 $\pm$ 3,23 <sup>a</sup>	24,2 $\pm$ 3,13 <sup>a</sup>

**Tabla 3.** *Ganoderma lucidum* complex. Cepa silvestre. Mezcla de Aserrines (MA), Hojarascas (HOJ), Avena (AV), Virutas de Cedro Paraguayo (VC). Valores diferentes con letras distintas para cada fila, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los superíndices a:  $p \leq 0,46$ ; b:  $p \geq 0,46$ .

	Sustratos evaluados		
	MA+AV	MA+HOJ+AV	VC
Tiempo total de cultivo (días)	49	41	35
Numero de Basidiomas cosechados	12 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	9 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	5 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Peso en fresco (g)	110 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	96 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>	90 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Diámetro promedio de los basidiomas (cm)	3 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	6 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
Eficiencia Biológica (%)	22,2 $\pm$ 3,50 <sup>a</sup>	23,6 $\pm$ 3,23 <sup>b</sup>	24,2 $\pm$ 3,13 <sup>b</sup>

**Tabla 4.** Cálculo de luminosidad. Cantidad de luz sometida a los cultivos en la etapa de inducción.

Potencia nominal	40 watts
Rendimiento luminoso	11 lm/W relación lumen / watts
Intensidad = $I = \Phi / W$	42.03 cd.
Intensidad luminosa total por 4 unidades de fluorescentes Angulo 180° equivalente a 4 $\pi$ estereoradianes (Jiménez <i>et al.</i> , 1995)	Equivalente a baja luminosidad (50 mM m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) (Kuhar <i>et al.</i> , 2018)
Área en m <sup>2</sup>	2.10 m (largo) x 1.50 m (ancho) x 2.06 m (alto)

Se obtuvieron primordios luego de dos semanas de riego y luz, obteniendo basidiomas adultos de *P. ostreatus* en 25 días y de *G. lucidum* en 35 - 40 días.

La cepa con mayor contaminación en la etapa de incubación fue la del complejo *Ganoderma lucidum* con la que se realizó un solo ensayo de prueba y dio un total de 3 oleadas, obteniendo un 50% de contaminación por hongos inferiores (mitospóricos) en los basidiomas de la segunda y tercera oleada. En *Postreatus* se observó contaminación en los basidiomas de una de las bolsas, el porcentaje de basidiomas desechados por esta causa fue del 10%. Se obtuvo un mayor número de basidiomas en aquellos sustratos enriquecidos con granos de avena como sustancia nutritiva para la mezcla de virutas y hojarascas, lo que favoreció la velocidad de crecimiento de micelio. También se pueden utilizar otros aditivos como aceites vegetales para enriquecer el sustrato e incentivar el crecimiento de los basidiomas, pero esta práctica puede aumentar el costo de producción. (Bidegain, 2017; Suárez Arango y Nieto, 2013).

En esta prueba de cultivo se considera al bagazo de caña como un sustrato poco eficiente, si bien existen estudios que comprueban su eficiencia como sustrato al bagazo y el despunte de caña de azúcar, residuos de la industria agro – azucarera (Albertó y Jaramillo, 2012). También fueron descartados los sustratos que implicaban mezclas con bagazo de caña. Estas bolsas presentaron un estancamiento del crecimiento del micelio en el sustrato, por lo que no se pudo avanzar a la parte de inducción de basidiomas.

Según García Rollán (1985), los sustratos más utilizados para *P. ostreatus* son las pajas de los cereales (como el trigo, centeno o la cebada), teniendo un 100% de eficiencia biológica y consiguiendo basidiomas de mayor tamaño y más carnosos cuando se los somete a una temperatura de dos a tres grados en la etapa de inducción de los primordios y utilizando harina de soja o de girasol como aditivos. Sin embargo, en otras pruebas se utilizan tusa de choclo y cáscara de arveja como sustratos opcionales con valores de EB 70% y usando aserrín de roble como grupo control (López-Rodríguez *et al.*, 2008). Estos resultados demuestran una mayor eficiencia biológica frente a los utilizados en este trabajo, teniendo en cuenta la temperatura y humedad utilizada. La productividad podría mejorarse con aditivos recomendados en dichos trabajos.

Para *Ganoderma* sin embargo, se utilizan sustratos de maderas duras, generalmente del género *Quercus* sp., teniendo un periodo de cosecha entre 90 a 120 días (Rodríguez Valencia y Jaramillo López, 2005). Sin embargo, los resultados con la mezcla de virutas utilizados en estas pruebas fueron muy eficientes, obteniendo primordios en 30 a 45 días y oleadas cada diez a veinte días.

## CONCLUSIÓN

Los granos de cebada y las semillas de poroto fueron los más eficientes para la producción de inóculo. Se descartó al garbanzo por baja propagación de micelio y rápida descomposición, formándose una pasta que no cumple con el propósito de dispersión de micelio en los sustratos finales.

El sustrato que se recomienda para el cultivo de ambas cepas resultó ser la mezcla de virutas de cedro paraguayo con hojarasca y avena (MA+HOJ+AV), que dio resultados similares al control positivo. Además, como sustrato se descartó al bagazo de caña, ya que el crecimiento del micelio en el sustrato utilizado en este trabajo fue totalmente nulo.

Según las pruebas estadísticas realizadas, los demás sustratos utilizados, tanto para el inóculo (granos y semillas) como el sustrato final, fueron eficientes para el cultivo de ambas especies de hongos. En los sustratos finales la eficiencia biológica fue del 50%, presentando valores del 40% para «MA+AV», 45,20% para «MA+HOJ+AV» y el 53,20% para el «AC». La utilización de desechos orgánicos para el cultivo de hongos puede resultar una interesante alternativa de reciclaje de materia orgánica para generar cultivos a pequeña o gran escala. Las pruebas de cultivo de ambas especies se realizan por primera vez en este país con esta mezcla de sustratos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) con el programa PROCENCIA por darnos la oportunidad y el apoyo financiero para empezar este proyecto. A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por darnos el espacio físico para los equipamientos y laboratorios de producción. Al Dr. Orlando Popoff y al Msc. Carlos Salvador Montoya por el apoyo en los análisis y diagramación del trabajo. Los autores agradecen especialmente a ambos evaluadores, por sus valiosos comentarios y aportes que ayudaron en gran magnitud para la buena presentación del trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

Alder, M. y Zubillaga, M. F. (2014). Una alternativa de diversificación productiva para los valles Patagónicos. Argentina. INTA.

- Albertó, E. (2008). Cultivo intensivo de los Hongos Comestibles «Cómo cultivar Champiñones, Gírgolas, Shiitake y otras especies». Buenos Aires, Argentina: Editorial hemisferio Sur.
- Ávila López, G. I. (2013). Hongos Comestibles Manual de cultivo casero de setas. Guadalajara, Jal. México: Arvol, Arte y Cultura por la Evolución.
- Bidegain, M., Postemsky, P., González Matute, R., Figlas, D., Devalis, R. Delmastro, S., Pereyra Huertas, N., Curvetto, N. y Cubitto, M. A. (2014). Optimización de la producción del hongo medicinal Reishi (*Ganoderma lucidum*) para el desarrollo de nutraceuticos y fitoterápicos. V Jornadas Académicas de la RedVI-TEC: CERZOS, CONICET – Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.
- Bidegain, M. (2017). Optimización del cultivo de *Ganoderma lucidum*. Evaluación de actividad y desarrollo de nutraceuticos. (Tesis doctoral). Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.
- Campi, M., De Madrignac B., Flecha A. y Ortellado, A. (2013). «HONGOS» de la Reserva Natural Laguna Blanca. San Lorenzo, Paraguay: Universidad Nacional de Asunción. Editorial Salpa.
- Ciappini, M., Gatti, B. y López Zamora, M. (2004). *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú. estudio sobre las gírgolas en la dieta diaria. *Invenio* 7 (12): 127-132.
- Colavolpe, M. B. y Albertó, E. (2014). Cultivations requeriments and substrate degradation of the edible mushroom *Gymnopilus pampeanus* – A novel species for mushroom cultivation. *Scientia Horticulturae* 180: 161–166.
- Figlas, D. y Curvetto, N. (2002). Monografías sobre las propiedades Medicinales del Hongo REISHI (*Ganoderma lucidum*). Buenos Aires: Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca.
- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez Merlo, R. y Mata, G. (2006). Manual práctico del cultivo de Setas, aislamiento, siembra y producción. Xalapa, Veracruz: México: Instituto de Ecología, A.C.
- García Rollan, M. (1985). Nuevas técnicas del cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Ministerio de Agricultura. Hojas divulgadoras. Recuperado de <https://www.mapama.gob.es>.
- Jaramillo, S. y Albertó E. (2012). El despunte de caña de azúcar, sustrato altamente productivo para la producción de *Pleurotus ostreatus*. En: J. E. Sánchez, G. Mata (Eds.), *Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica: Investigación y Desarrollo en un Entorno Multicultural* (pp. 155-161). Tapachula, México: El Colegio de La Frontera Sur, Ecosur.
- Jiménez, B., Vicente, Aguilar M. Rico Iluminación y color. Ed. UPV, Valencia, 1995.
- Kuhar, F.; Postemsky, P. D. y Bianchinotti, M. V. Conditions Affecting Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes) Basidiome Quality, Morphogenesis, and Biodegradation of Wood By-products in Argentina (2018). *International Journal of Medicinal Mushrooms*
- López-Rodríguez, C., Hernández-Corredor, R., Suárez-Franco, C. y Borrero, M. (2008). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre

- diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. *Scientiarum* 7: 43-82.
- Martínez Carrera, D., Sobal, M., Morales, P., Martínez, W., Martínez, M. y Mayett, Y. (2004). Los Hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación mexicana. Puebla, México: Colegio de Postgraduados, Biotecnología de Hongos comestibles.
- Mereles, F., Cartes, J. L., Clay, R. P., Cacciali, P., Paradedá, C., Rodas, O., y Yanosky, A. (2013). Análisis cualitativo para la definición de las ecorregiones del Paraguay occidental. *Paraquaria Natural* 1 (2): 12-20.
- Mora, V. M. y Martínez-Carrera D. (2007). Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (*Pleurotus*) en México. En: J. E. Sánchez, D. Martínez-Carrera, G. Mata & H. Leal (Eds.), *El Cultivo de Setas Pleurotus spp. en México*. México (pp. 7-26). Distrito Federal de México ECOSUR Ediciones.
- Rodríguez Valencia, N. y Jaramillo López, C. (2005). Cultivo de Hongos Medicinales en residuos agrícolas de la zona cafetera. Manizales, Colombia. Cenicafe.
- Rossi, P., Buonocore, D., Altobelli, E., Brandalise, F., Cesaroni, V., Lozzi, D., Savino, E. y Marzatico, F. (2014). Improving Training Condition Assessment in Endurance Cyclists: Effects of *Ganoderma lucidum* and *Ophiocordyceps sinensis*. Dietary Supplementation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014: 1-12. doi: 10.1155/2014/979613.
- Suárez Arango, C. y Nieto, I. J. (2013). Cultivo Biotecnológico de machohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología* 30 (1): 1-8.
- Zanotti-Cavazzoni, J. C. (2000). Screening de Hongos Comestibles que crecen en Paraguay. *Revista de Ciencia y Tecnología - Dirección de Investigación de la UNA* 1: 85-89.
- Zhou, L-W., Yun Cao., Sheng-Hua, W., Vlasák J., De-Wei, L., Meng-Jie, L., Yu-Cheng, D. (2015). Global diversity of the *Ganoderma lucidum* complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multilocus phylogeny. *Phytochemistry* 114: 7-15.